

ICS 01.040.67

CCS X16

TB

中国营养保健食品协会团体标准

T/CNHFA 412—2025

乳清蛋白（骨桥蛋白 $\geq 5\%$ ）粉

Whey Protein (Osteopontin $\geq 5\%$) Powder

2025 -03 -31 发布

2025- 04-01 实施

中国营养保健食品协会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由中国营养保健食品协会提出并归口。

本文件起草单位：黑龙江飞鹤乳业有限公司、阿拉食品原料集团、内蒙古伊利实业集团股份有限公司、中国食品发酵工业研究院有限公司、合生元（长沙）营养食品有限公司、君乐宝乳业集团股份有限公司。

本文件主要起草人：孙建国、解庆刚、张亮、刘洋、李庆妍、谢阳、程健博、密少真、景智波、李宁、刘明、高红波、乔小青、李莉、赵娟、韩美娜。

本文件为首次发布。

乳清蛋白（骨桥蛋白 $\geq 5\%$ ）粉

1 范围

本标准规定了乳清蛋白（骨桥蛋白 $\geq 5\%$ ）粉的术语和定义、技术要求、试验方法、检验规则及标志、包装、运输和贮存。

本标准适用于乳清蛋白（骨桥蛋白 $\geq 5\%$ ）粉。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。下列文件中所包含的部分条款通过相关标准的引用而成为本标准的部分内容。凡是注明日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注明日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改版本）适用于本文件。

GB 2761 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量

GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量

GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定

GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定

GB 5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定

GB 5009.6 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定

GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则

GB 11674 食品安全国家标准 乳清粉和乳清蛋白粉

GB 19301 食品安全国家标准 生乳

GB/T 191 包装储运图示标志

3 术语和定义

3.1 骨桥蛋白 Osteopontin, OPN

一种具有与钙有结合活性的分泌型磷酸化糖蛋白，是乳清蛋白中的一种活性成分。也称为乳骨桥蛋白（或乳桥蛋白）。

3.2 乳清蛋白（骨桥蛋白 $\geq 5\%$ ）粉 Whey protein (osteopontin $\geq 5\%$) powder

以生乳或乳清为原料，经分离、浓缩、干燥等工艺制成的粉状产品。

4 技术要求

4.1 原料要求

4.1.1 生乳：应符合 GB 19301 的规定。

4.1.2 乳清：以生乳为原料生产乳制品而得到的乳清。

4.1.3 其它原料：应符合相应的安全标准和/或有关规定。

4.2 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项 目	要 求	检验方法
色泽	色泽均匀一致，呈白色至乳黄色，有光泽	取适量试样，置于清洁、干燥的白色瓷盘中，在自然光线下观察其色泽和外观，闻其气味，用温开水漱口，品尝滋味。
滋味、气味	具有产品特有的滋味、气味，无异味	
组织状态	干燥均匀的粉末状产品、无坚硬结块，无正常视力可见异物	

4.3 理化要求

应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项 目	指 标	检验方法
骨桥蛋白/ (g/100g) \geq	5.0	附录 A
蛋白质/ (g/100g) \geq	70.0	GB 5009.5
水分/ (g/100g) \leq	6.0	GB 5009.3
灰分/ (g/100g) \leq	9.0	GB 5009.4

4.4 污染物限量

应符合 GB 2762 的规定。

4.5 真菌毒素限量

应符合 GB 2761 的规定。

4.6 微生物限量

应符合 GB 11674 的规定。

5 标志、包装、运输和贮存

5.1 预包装产品标签

包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的规定。

5.2 包装材料和容器

应符合相关标准的规定。

5.3 产品运输和贮存

应符合相关标准的规定。

产品运输时应避免日晒、雨淋，不应与有毒、有害、有异味或影响产品质量的物品混装运输。

产品应贮存在干燥、通风良好的场所。不应与有毒、有害、有异味、易挥发、已腐蚀的物品共同贮存。

附录 A

(规范性)

骨桥蛋白的测定 高效液相色谱法

A.1 原理

含有酪蛋白的试样除去酪蛋白，不含有酪蛋白的试样直接溶解，骨桥蛋白保留至上清液中，进高效液相色谱仪，经蛋白质阴离子交换色谱柱将骨桥蛋白与其他杂质分离，紫外检测器检测，外标法定量。

A.2 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

A.2.1 水，GB/T 6682，一级。

A.2.2 氢氧化钾溶液（3 mol/L）：称取 16.8 g 氢氧化钾，加入 80 mL 水溶解，定容至 100 mL，混匀。

A.2.3 盐酸溶液（10%）：取 10 mL 盐酸，加入至 80 mL 水中，定容至 100 mL，混匀。

A.2.4 三羟甲基氨基甲烷溶液（1 mol/L，pH=8.0）：称取 121.1 g 三羟甲基氨基甲烷，加入 800 mL 水溶解，用盐酸溶液（A.2.3）调节 pH 至 8.0，加水定容至 1 L。

A.2.5 三氟乙酸水溶液（0.1%）：取 1 mL 三氟乙酸，加水定容至 1 L，混匀。

A.2.6 乳酸溶液（10%）：取 10 mL 乳酸，加入 90 mL 水，混匀。

A.2.7 氯化钙溶液（0.5 mol/L）：称取 55.49 g 氯化钙，加入 900 mL 水溶解并定容至 1 L，混匀。

A.2.8 流动相 A（pH=8.0）：称取 0.584 g 氯化钠，20 mL 三羟甲基氨基甲烷溶液（A.2.4），加入 800 mL 水，溶解并定容至 1 L，混匀。

A.2.9 流动相 B（pH=8.0）：称取 46.76 g 氯化钠，20 mL 三羟甲基氨基甲烷溶液（A.2.4），加入 800 mL 水，溶解并定容至 1 L，混匀。

注：若流动相A与B复测pH不等于8，需要用3 mol/L氢氧化钾溶液（A.2.2）或10%盐酸（A.2.3）溶液调整。

A.2.10 骨桥蛋白标准品（CAS号：106441-73-0），纯度>85%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

A.2.11 骨桥蛋白标准品储备液（1 000 mg/L）：准确称取一定质量的骨桥蛋白标准品（根据实际纯度计算）用流动相 A（A.2.8）溶解并定容至 25 mL。于-20℃保存，有效期 7 天。

A.2.12 骨桥蛋白标准品系列工作液：移取一定量的骨桥蛋白标准储备液（A.2.11），用流动相 A（A.2.8）配制成骨桥蛋白的浓度分别为 10 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L、250 mg/L、300 mg/L 标准系列工作溶液，临用现配。

A.2.13 聚醚砜滤膜：孔径 0.22 μm 。

A.3 仪器设备

A.3.1 高效液相色谱：配紫外检测器或二极管阵列检测器。

A.3.2 天平：感量 0.01 mg，0.1 mg。

A.3.3 水浴锅。

A.3.4 pH 计：精度为 0.01。

A.3.5 涡旋混和器。

A.3.6 超声波振荡器。

A.4 样品

乳清粉、乳清蛋白粉：取约 200 g 有代表性样品，混匀，装入洁净容器作为试样，密封并做好标识，于常温下干燥保存。

A.5 试验步骤

A.5.1 试样提取

A.5.1.1 含酪蛋白试样

准确称取 5 g（精确至 0.1 mg）试样，用 30 mL 40 $^{\circ}\text{C}$ ~50 $^{\circ}\text{C}$ 的水溶解，漩涡震荡 5 min。加入 4 mL 氯化钙溶液（A.2.7），混匀，于 70 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴 20 min，冷却室温，用乳酸溶液（A.2.6）调整 pH 至 4.3，用水定容至 50 mL，混匀，滤纸过滤，滤液用滤膜（A.2.13）过滤到进样瓶中，待上机测定。

A.5.1.2 不含酪蛋白试样

准确称取适量样品（0.5~2 g，精确到 0.1 mg），于 50 mL 离心管中，加入 30 mL 流动相 A（A.2.8），超声溶解，涡旋混匀后，转移至 50 mL 容量瓶中，用流动相 A（A.2.8）定容至刻度，摇匀。根据浓度用流动相 A（A.2.8）稀释，摇匀，此溶液过膜（A.2.13）后上机测定。

高含量骨桥蛋白样品需稀释至标准曲线范围内上机。

A.5.2 液相色谱参考条件

色谱柱：多孔聚甲基丙烯酸酯型季铵盐阴离子交换色谱柱，5 μm ，4.6 \times 100 mm；

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ ；

检测波长：220 nm；

进样量：10 μL ；

洗针液：0.1% 三氟乙酸水溶液。

梯度洗脱条件见表 A.1。

表 A.1 流动相洗脱条件

时间/min	流速/mL/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	0.4	50	50
3	0.4	50	50
6	0.4	20	80
10	0.4	10	90
13	0.4	10	90
14	0.4	50	50
20	0.4	50	50

A.5.3 标准曲线制作

取标准系列溶液（A.2.12），以骨桥蛋白标准溶液峰面积为纵坐标，以标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线，得到标准曲线回归方程。骨桥蛋白标准溶液的液相色谱图参见图B.1。

A.5.4 试样溶液的测定

将试样溶液（A.5.1）注入高效液相色谱仪，以保留时间定性，测得目标化合物峰面积，根据标准曲线得到待测液中骨桥蛋白的浓度。试样溶液中骨桥蛋白的浓度应在标准曲线的线性范围内，如超出范围，应将试样用流动相A溶液稀释后重新测定。

A.5.5 空白试验

除不称取样品外，均按上述步骤进行。

A.6 试验数据处理

试样中骨桥蛋白的质量分数 ω 计，数值以毫克每百克（mg/100 g）表示，按下列公式计算：

$$\omega = \frac{c \times V \times 100}{m \times 1000} \times f$$

式中：

c —被测组分曲线计算浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

V —样液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

m —试样质量，单位为克（g）；

f —稀释倍数；

计算结果以重复性条件下，获得的2次独立测定结果的算术平均值表示。当骨桥蛋白含量 ≥ 100 mg/100g时，计算结果保留4位有效数字；当骨桥蛋白含量 < 100 mg/100g时，计算结果保留3位有效数字。

A.7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的10%。

A.8 其他

固体样品称样量为5 g，定容体积为50 mL时，定量限为10.0 mg/100 g。

附录 B

(资料性)

骨桥蛋白标准溶液高效液相色谱图

骨桥蛋白标准溶液高效液相色谱图见图 B.1。

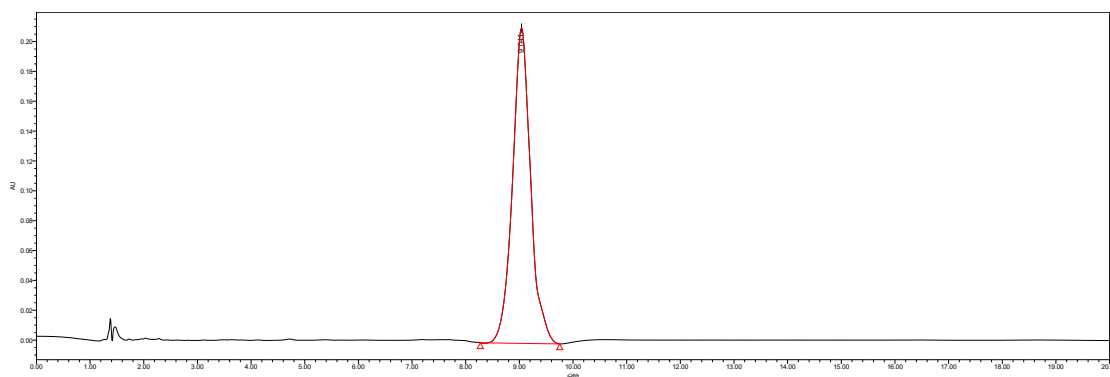


图 B.1 骨桥蛋白标准溶液 (0.5 mg/mL) 高效液相色谱图

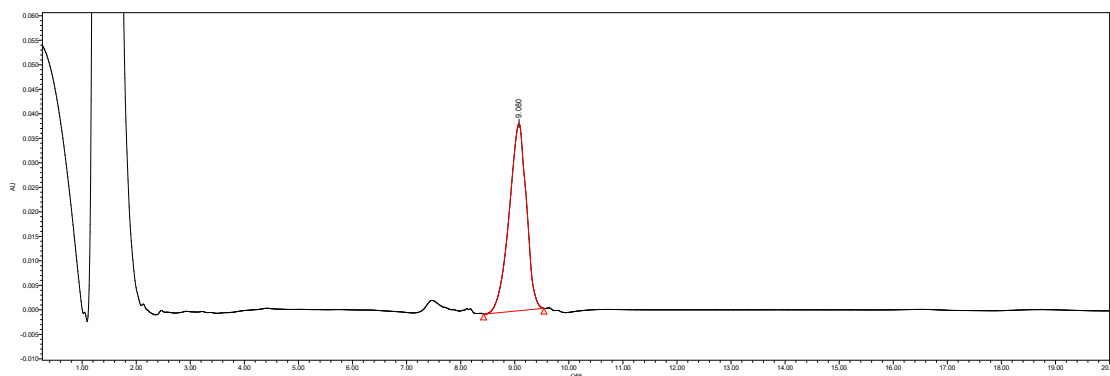


图 B.2 含骨桥蛋白样品高效液相色谱图